

# Efecto del Solvente en la Reacción de Obtención de $\alpha$ -Terpineol a partir de Aceite de Pomelo

**Resumen:** El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de distintos solventes en el rendimiento y la selectividad de la reacción de obtención de  $\alpha$ -terpineol a partir del aceite de pomelo, rico en limoneno. Se probaron como solventes alcohol isopropílico, ácido acético, acetona y tetracloruro de carbono. Se empleó un diseño estadístico unifactorial y un análisis ANOVA para demostrar que el solvente tuvo un efecto significativo en el rendimiento y la selectividad de la reacción. Se encontró además que con acetona, el rendimiento y la selectividad fueron más altos.

**Palabras Claves:**  $\alpha$ -terpineol, limoneno, efecto solvente, pomelo.

**Abstract:** The aim of this work was to study the effect of different solvents in the yield and the selectivity of the reaction for obtaining  $\alpha$ -terpineol from grapefruit oil, rich in limonene. It was tested as solvent isopropyl alcohol, acetic acid, acetone and carbon tetrachloride. A univariate statistical design was used and an ANOVA analysis to demonstrate that the solvent had a significant effect in the yield and the selectivity of the reaction. We found that with acetone, the yield and the selectivity were higher too.

**Keywords:**  $\alpha$ -terpineol, limonene, solvent effect, grapefruit.

Liliana M. Cáceres<sup>1,2</sup>, Silvia N. Zambón<sup>1,2</sup>, Gustavo A. Velasco<sup>1,2</sup>, Ester R. Chamorro<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Química Orgánica Biológica (QUIMOB), Facultad Regional Resistencia, Universidad Tecnológica Nacional. French 414 (H3500CHJ) Resistencia, Chaco, Argentina

<sup>2</sup>Instituto de Modelado e Innovación Tecnológica (IMIT-CONICET) Av. Libertad 5460 (W3404AAS), Campus Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina

Mail: mcaceres@frre.utn.edu.ar

## INTRODUCCIÓN

El terpineol es un alcohol monoterpénico presente en una variedad de fuentes naturales tales como el aceite esencial de pino y el aceite esencial de petitgrain. Posee cuatro isómeros: alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) y gamma ( $\gamma$ ) -terpineol y el terpinen-4-ol, siendo el  $\alpha$ -terpineol, el componente principal. Es un componente muy utilizado en cosmética, perfumería, y en limpiadores y detergentes, por su aroma agradable, similar a la lila; con un consumo de más de 1.000 toneladas por año (Bhatia, et al., 2008). Asimismo, es considerado uno de los 30 compuestos más usados como saborizantes (Welsh et al., 1989). La importancia de su producción recae además en sus propiedades antimicrobianas (Oyedemi et al., 2009) y en el alto valor que se agrega al aceite esencial del cual se lo obtiene. Generalmente el  $\alpha$ -terpineol, es obtenido a partir de la hidratación del  $\alpha$ -pineno, que junto con el limoneno y el  $\beta$ -pineno, son los monoterpenos de origen natural mayormente utilizados como sustratos para la producción de sabores y fragancias (Erman, 1985; Chalk, 1988). La hidratación de  $\alpha$ -pineno se lleva a cabo en soluciones acuosas diluidas de ácido sulfúrico, ácido fosfórico (Traynor and Albert, 1989) y ácido tricloroacético (Román Aguirre et al., 2005). También se lo puede obtener por hidratación (Matsubara, et al., 1987) o bioconversión (Tan et al., 1998) del limoneno. La hidratación del limoneno en ácido acético acuoso, produce un carbocatión intermedio, facilitando el ataque del nucleófilo al doble enlace exocíclico (Ege, 1997), formando productos de adición como el  $\alpha$ -terpineol (Yadav et al., 2009; Lemos Bicas et al., 2010). En otros estudios también se han obtenido  $\alpha$ -terpineol, p-mentano-1,8-diol y alcohol perfílico como los productos mayoritarios en la oxidación de limoneno,  $\alpha$ -pineno y aceites esenciales de naranja y mandarina, empleando el hongo *Aspergillus niger* como biocatalizador (Castellanos Molina, 2007). Para la reacción cata-

lítica heterogénea de limoneno en ácido acético acuoso, se informan conversiones de limoneno del 58 al 82% y para una catálisis homogénea con heteropoliácidos, una selectividad a terpineol de 32 a 70%, observándose el aumento de la conversión y selectividad en ambas reacciones por el agregado de ácido acético como solvente (Yadav, et al., 2009; Robles, et al., 2001). Asimismo se sabe que un solvente puede modificar la velocidad de una reacción y la actividad de los reactivos, en función de la polaridad del complejo activado en relación a la de sus reactivos, y esto depende directamente de la polaridad del solvente (Reichardt, 2004). Hidalgo Carrillo encontró un efecto solvente sobre la actividad y la selectividad para butanal, 1-butanol y alcohol crotilico, obtenido en la hidrogenación de crotonaldehído en fase líquida (Hidalgo Carrillo, et al., 2010). También, Mukherjee estudió el efecto del solvente en la hidrogenación en fase líquida de citral en una reacción catalítica heterogénea, examinando y comparando la actividad específica y la selectividad del producto en ocho disolventes no reactivos con propiedades físicas y electrónicas significativamente diferentes (Mukherjee and Vannice, 2006). Asimismo, Bertero investigó el efecto de solventes de diferente naturaleza: prótico, aprótico polar, y disolventes apolares, encontrando diferencias en la interacción catalizador-solvente (Bertero et al., 2011). Del mismo modo, Meuldijk halló influencias de la composición del solvente sobre la actividad catalítica en la hidratación de 2-metil-propeno en soluciones de ácido p-toluensulfónico y poli ácido estirensulfónico (Meuldijk et al., 1986).

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de distintos solventes en el rendimiento de la reacción de hidratación del limoneno para la obtención de  $\alpha$ -terpineol; empleando como materia prima, aceite esencial de pomelo conteniendo un alto porcentaje de limoneno.s.

## DESARROLLO

### Materia prima y reactivos

Se usó aceite esencial de pomelo (*Citrus paradisi*) como fuente de limoneno. El aceite fue obtenido como subproducto en una planta industrial de extracción de zumo de cítricos en la ciudad de Bella Vista (Corrientes, Argentina).

Se empleó agua como agente hidratante y ácido tricloroacético (Fluka, p.a.) como catalizador. Se seleccionaron los solventes alcohol isopropílico y ácido acético como polares próticos, acetona como polar aprótico y tetracloruro de carbono como apolar. También se probó la reacción sin solvente.

### Caracterización de la materia prima e identificación del producto

Se determinó el índice de refracción del aceite esencial de pomelo según Norma IRAM-SAIPA 18505:2002, en un refractómetro de Abbe Modelo DR-M2 con control termostático de temperatura, y lámpara de luz blanca. La densidad relativa según Norma IRAM-SAIPA 18504:2002, mediante un método picnométrico, con una balanza Mettler Modelo AJ150 con precisión de 0,10 mg. Y la rotación óptica según IRAM-SAIPA 18507:1987, utilizando un polarímetro de disco Tipo WXG-4, rango de medición  $\pm 180^\circ$  y precisión de  $0,05^\circ$ .

La identificación de los componentes del aceite esencial de *Citrus paradisi*, se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC/MS). Se utilizó un equipo Shimadzu modelo QP 5050, con dos columnas capilares: una SE 52 (Mega, Legnano, Italia) unida químicamente (25 m x 0,25 mm de diámetro interno; 0,25  $\mu\text{m}$  de espesor de fase fija), recubierta con 5% de fenil-polimetilsiloxano (0,25  $\mu\text{m}$  de espesor de fase fija) temperatura

en la columna:  $60^\circ\text{C}$  durante 8 minutos, aumentando hasta  $180^\circ\text{C}$  a una velocidad de  $3^\circ\text{Cmin}^{-1}$ ; luego hasta  $230^\circ\text{C}$  a una velocidad de  $20^\circ\text{Cmin}^{-1}$ . Temperatura del inyector  $250^\circ\text{C}$ , modo de inyección split; relación de split 1:40; volumen de inyección: 0,2  $\mu\text{l}$  de aceite. Fase móvil: helio, 122,2 kPa (51,6  $\text{cmseg}^{-1}$ ), temperatura de interfase:  $250^\circ\text{C}$ ; rango de adquisición de masa 40-400  $\text{mz}$ -1. La otra fue una columna capilar de sílice fundida BP-20 (SGE, Australia), de 25 m x 0,25 mm de diámetro interno, recubierta con polietilenglicol 20000 (0,25  $\mu\text{m}$  de espesor de fase fija). Temperatura en la columna  $40^\circ\text{C}$  (8 min), aumentando hasta  $180^\circ\text{C}$  ( $3^\circ\text{Cmin}^{-1}$ ), y a  $230^\circ\text{C}$  ( $20^\circ\text{Cmin}^{-1}$ ). Temperatura del inyector  $250^\circ\text{C}$ , modo de inyección split, relación de split 1:40; volumen inyectado: 0,2  $\mu\text{l}$  de aceite. Fase móvil: helio, 92,6 kPa (55,9  $\text{cmseg}^{-1}$ ), temperatura en interfase:  $250^\circ\text{C}$ ; rango de adquisición de masas: 40-400  $\text{mz}$ -1. Los patrones de fragmentación de cada componente se compararon con los almacenados en la biblioteca de espectros del software (Adams, 2001; McLafferty, 1991).

La identificación del  $\alpha$ -terpineol en el producto de reacción se realizó mediante una cromatografía gaseosa, comparando el tiempo de retención con el del patrón cromatográfico  $\alpha$ -terpineol (Fluka, Sigma-Aldrich). Se empleó un cromatógrafo SHIMADZU GC 14B, con columna polar Megabore DB-WAX P/N 125-7032 de 30m de longitud x 0,53mm de diámetro interno x 1  $\mu\text{m}$  de espesor, conectada a un detector FID. La temperatura del detector fue de  $220^\circ\text{C}$  y la temperatura de inyector de  $180^\circ\text{C}$ . La temperatura de la columna se mantuvo isotérmica en  $30^\circ\text{C}$  durante 2 minutos, luego inició una rampa de  $5^\circ\text{Cmin}^{-1}$  hasta llegar a  $200^\circ\text{C}$ , por último se mantuvo isotérmica a  $200^\circ\text{C}$  durante 5 minutos.

### Condiciones de reacción

La reacción de hidratación del limoneno se llevó a cabo en un reactor batch a escala laboratorio, a una temperatura

de 80°C, con agitación, durante 8 horas. Las relaciones másicas de aceite, agua, ácido y solvente fueron de 1:3:1:1 en todas las reacciones.

### Diseño experimental y análisis de datos

Para la planificación de las reacciones y el análisis de datos se empleó un diseño experimental unifactorial, de efectos fijos. Se determinó como factor a estudiar el solvente y como variable respuesta, el rendimiento de la reacción. La unidad de análisis fue el producto obtenido de la reacción. Se fijaron 5 niveles, determinados por los cuatro solventes más un nivel sin solvente. Además se efectuaron 5 réplicas por nivel, es decir un total de 25 observaciones. La ecuación matemática que rige este modelo es la siguiente:

$$Y_{ij} = \mu_i + \varepsilon_{ij} \quad i=1,2 \dots k, j=1,2 \dots n \quad (1)$$

Donde  $Y_{ij}$  representa el valor del rendimiento de cada observación y  $\mu_i$  es la media de cada nivel (constituido por la media global  $\mu$  más un efecto que se debe al nivel, y el término  $\varepsilon_{ij}$  representa el error aleatorio y mide la desviación que se tiene entre observaciones de cada nivel). El análisis estadístico de los datos se llevó a cabo mediante el método de análisis de la varianza (ANOVA). El mismo consistió en probar si las medias de los rendimientos de cada nivel ( $\mu_i$ ) son significativamente diferentes, lo que indicaría un efecto del solvente en cada nivel. Para esto se realizó una prueba  $f$  de Fisher y se calculó el valor  $p$ , con una significancia del 95%.

### Cálculo del rendimiento

La concentración inicial ( $C_i$ ) y final ( $C_f$ ) de limoneno y la concentración final de terpineol ( $C_{\text{terpineol}}$ ) en el

producto de reacción se calcularon mediante el método del estándar interno con cromatografía gaseosa. Se calculó luego la conversión del limoneno ( $C_{\text{ylimoneno}}$ ), la selectividad a terpineol ( $S_{\text{vterpineol}}$ ) y el rendimiento de la reacción (R%):

$$Cv_{\text{limoneno}} = \frac{C_i - C_f}{C_i} \quad (2)$$

$$Cv_{\text{terpineol}} = \frac{C_{\text{terpineol}}}{Cv_{\text{limoneno}}} \quad (3)$$

$$R\% = Cv_{\text{limoneno}} * Sv_{\text{terpineol}} * 100 \quad (4)$$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores obtenidos y las especificaciones de referencia para las propiedades físicas medidas se muestran en la tabla 1.

Propiedad	Especificaciones Norma IRAM SAIPA 18586:1987	Valor Medido
Densidad (mg/ml)	0,8520-0,8600	0,8573
Índice de Refracción	1,4740-1,4790	1,4723
Rotación óptica (°)	91,00–96,00	91,60

Tabla 1. Propiedades físicas de Citrus paradisi.

Se puede observar que el valor de densidad relativa determinado a 25°C se encuentra dentro de las especificaciones dadas por la norma de calidad para el aceite de pomelo, pero ligeramente superior que el determinado por otros autores: 0,8433 mg/ml (Pino et al., 1999), 0,8539 mg/ml (Soto, 2013), 0,8415 mg/ml (Keterton

and Mac Duffy, 1971), 0,8500 mg/ml (Viuda Martos, 2008) y 0,8580 mg/ml (Guenther, 1961) para el aceite esencial de este mismo fruto. La rotación óptica medida también se encuentra dentro de las especificaciones de la norma pero inferior que el determinado por otros autores: 94,00° (Pino et al. 1999), 93,00° (Soto, 2013), 93,40° (Guenther, 1961) y acorde al rango: 91,50° a 96,50° (Keterton and Mac Duffy, 1971).

El índice de refracción medido, es levemente inferior a lo especificado en dicha norma, y superior a lo informado por otros autores: 1,4692 (Pino et al. 1999), 1,4690 (Soto, 2013), 1,47 (Viuda Martos, 2008), dentro del rango: 1,4714 a 1,4746 (Keterton and Mac Duffy, 1971), y levemente inferior a 1,4755 (Guenther, 1961). Los valores de las propiedades físicas del aceite esencial de pomelo se deben al alto contenido en su composición de hidrocarburos mono-terpénicos, especialmente limoneno.

En el análisis de GC/MS fueron identificados el 99,10% de los componentes del aceite de pomelo, siendo mayor a la cantidad de compuestos identificados por otro autor: 95,98% (Soto, 2013). El limoneno, fue el mono-terpeno identificado en mayor proporción, (92,60%), siendo superior al reportado por otros autores para aceites esenciales de cítricos: 76,60% (Rojas et al., 2009), 76,00% a 96,00% (Kirbaslar et al., 2006; Espina et al., 2011). Otros monoterpenos encontrados fueron  $\beta$ -mirceno (1,2%) y  $\alpha$ -pineno (0,6%). La composición química del aceite de pomelo guarda correspondencia con el método de extracción empleado.

Los resultados del ANOVA se resumen en la Tabla 2, donde se observa el valor  $f_0$  de la prueba de contraste de Fisher y el valor  $f$  de referencia. Se trabajó con un nivel de significancia del 5% y 20 grados de libertad. Se observa que  $f_0 > f$  y además el valor  $p < 0,05$  por lo que se concluye que el solvente tiene un efecto significativo en el rendimiento de la reacción.

Para identificar los niveles que muestran tal diferencia, se elabora la tabla de intervalos de confianza individuales (Figura 1). En la misma se muestran los conjuntos de paréntesis que representan los intervalos donde, con un 95% de confianza, estaría la media del rendimiento de cada nivel. Se puede observar que no hay superposición para los niveles 1, 2, y 4 con el nivel 3, lo que sugiere que el nivel 3 se diferencia significativamente del resto. Es decir que entre las medias de los rendimientos correspondientes a las reacciones sin solvente, con alcohol isopropílico, con ácido acético y con tetracloruro de carbono no existen diferencias, mientras que todas ellas se diferencian de la media del rendimiento de reacción con solvente acetona.

Fuente	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Media de Cuadrados	$f_0$	$f$	P
Tratamiento	4	295,01	73,75			
Error	20	108,98	5,45	13,54	2,87	0,000
Total	24	403,99				

Tabla 2 - Resultados del ANOVA.

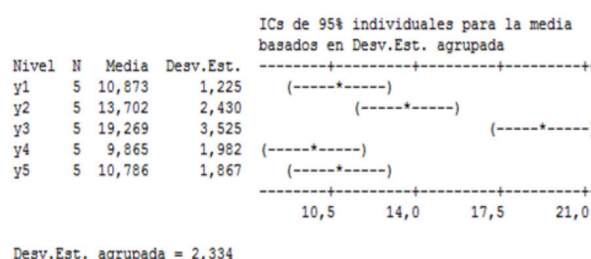


Figura 1 - Intervalos de confianza para las medias de los rendimientos de cada nivel.

Además se aprecia que los ensayos con acetona produjeron un mayor rendimiento (19,26%), aunque también con mayor desvío. El menor rendimiento medio observado fue de 9,865% correspondiente a los ensayos con ácido acético. Siguen en orden, las reacciones con tetracloruro de carbono con un rendimiento de 10,786%, luego los ensayos sin solvente

con un valor medio de 10,873% y las reacciones con alcohol isopropílico con 13,702%.

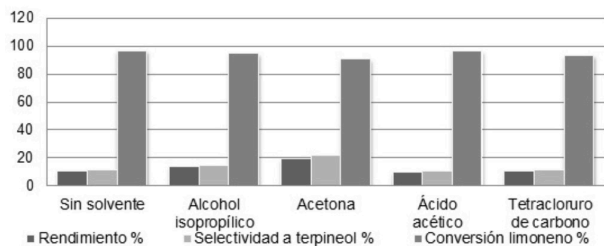


Figura 2 – Comparación entre las medias de Rendimientos, Conversión y Selectividad de cada nivel del diseño experimental.

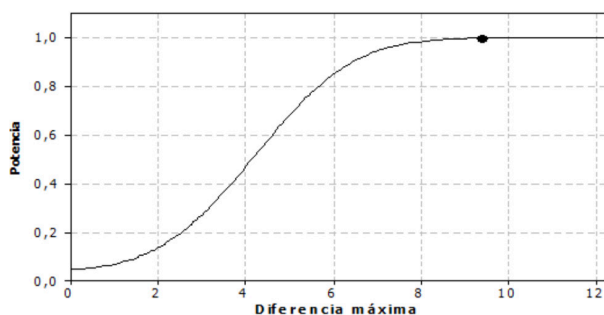


Figura 3 – Curva de potencia de la prueba.

En la figura 2 se pueden comparar los resultados de conversión, selectividad y rendimiento para cada solvente, observándose que con acetona se obtuvo el mayor rendimiento como consecuencia del aumento de la conversión y la selectividad a terpineol. Otros autores han obtenido resultados similares (Murkherjee and Vannice, 2006).

La evaluación de la potencia de la prueba permite determinar la probabilidad de que el experimento identifique correctamente un efecto si éste existe. Los resultados muestran que para la prueba con un  $\alpha$  de 0,05; la potencia es de 99,85%. Es decir la prueba puede detectar una diferencia máxima de 9,40% en el rendimiento de las reacciones y rechazar la hipótesis nula con un 99,85% de probabilidad. En la Figura 3 se puede observar la curva de potencia para el tamaño de muestra igual a 5, el punto que representa la potencia calculada se halla sobre la zona de potencia máxima, lo que indica una buena elec-

ción en el número de muestras o réplicas por nivel.

## CONCLUSIONES

La composición química y los valores de las propiedades físicas del aceite esencial de pomelo obtenido se encontraron cercanos o dentro de los valores reportados en la literatura para este tipo de aceite, y guardaron correspondencia con el método de extracción empleado y con el alto contenido en hidrocarburos monoterpénicos, especialmente el limoneno.

El análisis estadístico demostró que el solvente tuvo un efecto significativo en la reacción y que la acetona fue el solvente que mejoró el rendimiento medio de la misma (con aumentos de un 6% a un 10%). Aunque el mayor grado de conversión del limoneno se obtuvo con el solvente ácido acético (97,69%).

Esto puede ser debido a que la acetona, por su naturaleza polar, se solubiliza tanto en el agua como en el limoneno, mejorando la superficie de contacto entre ambos reactivos. Es importante señalar que la acetona posee un grupo carbonilo en su molécula, cuyo doble enlace interacciona con el grupo carboxílico del ácido tricloroacético, aumentando la capacidad de protonación. De esta manera se forma más fácilmente el carbocatión intermediario del limoneno, si se lo compara con los otros solventes. Además al ser un solvente polar aprótico no forma puentes de hidrógeno con el agua, por lo que deja libre este nucleófilo para atacar al carbocatión formado, posibilitando la hidratación del limoneno para producir terpineol.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Mager S.R.L., por el aporte de aceite de pomelo utilizado en la presente investigación.

## REFERENCIAS

- Bathia S., Mc Ginty D., Foxenberg R., Letizia C., Api A., "Fragrance material review on Terpineol", *Food and Chemical Toxicology*; 46:S275-S279, (2008).
- Welsh F., Murray W., Williams R., "Microbiological and enzymatic production of flavour and fragrance chemicals", *Critical Reviews Biotechnology*; 9:105, (1989).
- Oyedemi S., Okoh A., Mabinya L., Pirochenva G., Afolayan A., "The proposed mechanism of bactericidal action of eugenol, -terpineol and g-terpinene against *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Proteus vulgaris* and *Escherichia coli*", *African Journal Biotechnology*; 8(7):1280-1286, (2009).
- Erman E., "Chemistry of the monoterpenes, an Encyclopedic Handbook", New York: Marcel Dkker, (1985).
- Chalk A., "Catalysis of Organic Reactions", New York: Marcel Dekker, (1988).
- Traynor R., Albert R., Naval Stores, New York: Pulp Chemical Association, (1989).
- Román Aguirre M., De la Torre Sáenz L., Antúnez Flores W., Robau Sánchez A., Aguilar Elguézabal A, Synthesis of terpineol from  $\alpha$ -pinene by homogeneous acid catalysis. *Catalysis Today*, 107(108):310-314, (2005)
- Matsubara K., Tanaka M., Urata T., Fukunaga M., Kuwata K., Takahashi N, *Chemical Abstract*; 18, (1987).
- Tan Q., Day D., Cadwallader K., La bioconversión de (R)-(+)-limoneno por *P. digitatum* (NRRL 1202), *Process Biochemistry*; 29, (1998).
- Ege S., *Química Orgánica: estructura y reactividad*, Reverte, (1997).
- Yadav M., Patil M., Jasra R., Acetoxylation and hydration of limonene and pinene using cation exchanged zeolite beta, *Journal of Molecular Catalysis A: Chemistry*; 297:101-109, ( 2009).
- Robles Dutenhofner P., Da Silva K., Rafiq M., Siddiqui H., "Hydration and acetoxylation of monoterpenes catalyzed by heteropoly acid", *Journal of Molecular Catalysis A: Chemistry*; 175:33-42, (2001).
- Lemos Bicas J., Fontanille P., Pastore G., Larroche C., A bioprocess for the production of high concentrations of R-(+)- $\alpha$ -terpineol from R-(+)-limonene, *Process Bioche-*



mistry; 45:481-486, (2010).

Castellanos Molina R., *Biotransformación de limoneno,  $\alpha$ -pineno y aceites esenciales de Naranja y mandarina empleando Aspergillusniger*, Universidad Industrial De Santander, (2007).

Reichardt C., Welton T., *Solvents and solvent effect in Organic Chemistry*, 4a ed. Londres: Wiley UCH, 238-259, (2004).

Hidalgo Carrillo J., Aramendía M., Marinas A., Marinas J., Urbano F., *Support and solvent effects on the liquid-phase chemoselective hydrogenation of crotonaldehyde over Pt catalysts*, *Applied Catalysis A: General*; 385:190-200, (2010).

Eyler G., Cañizo A., Mateo C., *Efecto del solvente sobre la descomposición térmica de trans-3,6-dimetil-3,6-difenil-1,2,4,5-tetraoxaciclohexano en solución*, *Química Nova*; 27(6):920-924, (2004).

Keterton L., Mac Duffy C., *Florida Citrus Oils*, University of Florida. Gainesville Florida Institute of Technology; (452), (1971).

Mukherjee S., Vannice M., *Solvent effects in liquid-phase reactions. Activity and selectivity during citral hydrogenation on Pt/SiO<sub>2</sub> and evaluation of mass transfer effects*, *Journal of Catalysis*; 243:108-130, (2006).

Bertero N., Trasarti A., Apesteguía C., Marchi A., *Solvent effect in the liquid-phase hydrogenation of acetophenone over Ni/SiO<sub>2</sub>: A comprehensive study of the phenomenon*, *Applied of Catalysis A: General*; 394:228-238, (2011).

Meuldijk J., Joosten G., Stamhuis E., *Effect of solvent on the hydration of 2-methyl-propene in solutions of p-toluenesulfonic acid and polystyrenesulfonic acid*, *Journal of Molecular Catalysis*; 37(1):75-92, (1986).

IRAM-SAIPA 18504: *Productos aromatizantes. Determinación de la densidad relativa a 20°C*, Argentina, (2002).

IRAM-SAIPA 18505: *Productos aromatizantes. Determinación del índice de refracción*, Argentina, (2002).

IRAM-SAIPA 18507: *Productos aromatizantes. Determinación de la rotación óptica*, Argentina, (2002).

Adams, R.P., *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography, Quadrupole Mass Spectroscopy*, Allured: C. Stream, IL, (2001).

Mc Lafferty, F. W., Stauffer, D. B., *The Wiley/NBS Registry of Mass Spectral Data*, Wiley, New York, (1991).

Pino J., Acevedo A., Rabelo C., González C., Escandón J., *Composition of Distilled Grapefruit Oil*, *Journal of Essential Oil Research*; 11(1):75-76, (1999).

Soto L., *Caracterización química del aceite esencial de toronja (Citrus paradisi L.)*, *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*; 30:266-283, (2013).

Viuda Martos M., Navajas R., Fernandez J., Pérez J., *Antifungal activity of lemon (Citrus lemon), mandarin (Citrus reticulata L.) grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils*, *Food Control*; 19:1130-1138, (2008).

Guenther, E., *"The Essential Oils"*, Vol I. Toronto, Canada: D. Van Nostrand Company, Inc; 347-359, (1961).

Rojas J., Perea A., Stashenko E., *Obtención de aceites esenciales y pectinas a partir de subproductos de jugos cítricos*, *VITAE, Revista de la facultad de Química Farmacéutica*; 16(1):110-115, (2009).

Kirbaslar S., Boz I., Kirbaslar F., *Compisition of Turkish lemon and grapefruit peel oils*, *Journal of Essentials Oils Research*; 18:525-543, (2006).

Espina S., Conchello P., García D., Pagán R., *Chemical composition commercial citrus fruuit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined*, *Food Control*; 22:896-902, (2011).